

論文内容の要旨

Inhibition of transglutaminase 2 reduces peritoneal injury
in a chlorhexidine-induced peritoneal fibrosis model

トランスグルタミナーゼ2の抑制は
クロルヘキシジン誘発腹膜線維化モデルの腹膜障害を抑制する

日本医科大学大学院医学研究科 腎臓内科学分野

大学院生 久能木俊之介

Laboratory Investigation 掲載予定

1. 背景・目的

腹膜透析において、腹膜透過性の亢進は予後不良につながる重要な問題である。その病理学的特徴は腹膜線維化と血管新生であるが、その発症・進展の詳細なメカニズムはいまだに不明であり、有効な治療法も見つかっていない。近年 Transglutaminase 2 (TG2) が線維化を進行・持続させる新たなメディエーターとして報告された。今回、TG2 と腹膜線維化の関係を明らかにし、TG2 が腹膜線維化の治療標的になり得るか検討した。

2. 方法

1) 線維化モデルにおける TG2 の経時的発現の検討：腹膜の炎症・線維化モデルとして広く使用されているクロルヘキシジン誘発モデル (CG モデル) を用い、免疫組織学的染色、RT-PCR の解析を行った。CG をラット腹腔内に投与し、day 0, day 1, day 3, day 7, day 14 の TG2 や成長因子の発現、線維化の指標を検討した。2) 線維化抑制時における TG2 の発現の検討：CG モデルにおいて TGF- β type I receptor inhibitor (TGF β R-I) を腹腔内に投与し、TG2 発現・活性の変化を検討した。3) CG モデルにおける TG2 抑制の検討：TG2 の抑制実験として TG2 KO マウスを用い、CG モデルにおける線維化を評価した。4) ヒト腹膜組織の検討：長期腹膜透析患者と腹膜透析関連腹膜炎患者の腹膜組織を腹膜透析カテーテル抜去術時に採取し、コントロールとしては腎移植ドナーの腹膜組織を腎移植手術時に採取した。これらの組織の線維化の状態や TG2 の発現を検討した。

3. 結果

CG の腹腔内投与により腹膜の線維化は経時的に増加し、これに伴って TG2 の発現・活性は増加した。このことから TG2 は腹膜線維化プロセスに関連することが示唆された。2重染色を行ったところ、TG2 活性は α -SMA 陽性筋線維芽細胞、CD31 陽性血管で強くみられ、一部のマクロファージでも活性を認めた。線維化腹膜における TG2 陽性毛細血管は α -SMA 陽性、Vimentin 陽性、VE-Cadherin 陰性と、Endothelial-mesenchymal transition (EndMT) の特徴を示した。また、TGF β R-I の投与により線維化は軽減し、同時に TG2 の発現・活性も減少した。TG2 KO マウスにおける検討では、TG2 KO マウスは野生型と比較して線維化が軽減し、TGF- β 1 も抑制された。RT-PCR による解析を行ったところ、TG2 KO マウスはコラーゲンや TGF- β 1 の mRNA 発現が抑制されており、組織染色と同様の結果が得られた。CD31 と VE-Cadherin の 2重染色を行ったところ、線維化とともに低下する血管の VE-Cadherin 陽性率は、TG2 KO マウスでは維持されることが示され、TG2 が EndMT にも関与することが示唆された。ヒトの腹膜組織の解析では腹膜透析患者の組織で腹膜肥厚や線維化、血管新生、マクロファージ浸潤が増加しており、同時に TG2 の発現も増加していた。腹膜炎患者では線維化領域や血管で TG2 の強い発現を認めており、CG モデル動物の所見と類似していた。

4. 結論

腹膜の炎症・腹膜炎、腹膜透析液の非生体適合性といった因子が TGF- β 1 を誘導することが広く知られている。今回の実験の結果から TGF- β 1 と TG2 の相互誘導作用が示され、この悪性サイクルが腹膜線維化や血管新生を加速することが示された。また、TG2 は EndMT への関与が示唆された。培養細胞を用いた過去の報告でも TGF- β 1 と TG2 の相互作用 (線維芽細胞) と TG2 の EndMT への関与 (血管内皮細胞) が報告されており、本研究の動物実験でも、過去の報告と合致する結果が得られた。さらに、ヒト腹膜組織の解析でも長期腹膜透析患者や腹膜透析関連腹膜炎患者で TG2 の発現増加が示され、TG2 は腹膜透析における腹膜線維化にも関連する可能性が示唆された。

本研究の結果から、他の臓器線維化と同様に腹膜の線維化においても、TG2 が強く関与することが示された。TG2 は腹膜透析における腹膜線維化の新たな予防・治療ターゲットとなる可能性がある。